



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 7月 7日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-206228

出 願 人

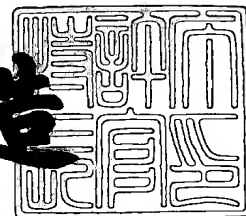
Applicant(s):

日本ペイント株式会社

2001年 6月26日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3060053

【書類名】 特許願

【整理番号】 00-00167

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C09D 5/16

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府寝屋川市池田中町19番17号 日本ペイント株式会社内

 【氏名】 山盛 直樹

【発明者】

 【住所又は居所】 愛媛県新居浜市東雲町1-3-27

 【氏名】 早瀬 伸樹

【特許出願人】

 【識別番号】 000230054

 【氏名又は名称】 日本ペイント株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100086586

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 安富 康男

【選任した代理人】

 【識別番号】 100104813

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 古谷 信也

【選任した代理人】

 【識別番号】 100108431

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 村上 加奈子

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 033891

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705385

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 バイオゼリー産生微生物

【特許請求の範囲】

【請求項1】 *Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生することを特徴とする微生物。

【請求項2】 FERM P-17821 株である請求項1記載の微生物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオゼリーを産生する微生物に関する。

【0002】

【従来の技術】

船舶、漁網、その他の水中構造物等には、フジツボ、イガイ、藻類等の水棲生物が付着しやすく、それによって、船舶等では効率のよい運航が妨げられ、燃料の浪費を招いたり、漁網等では目詰まりが起こったり、耐用年数が短くなる等の問題が生じる。

水中構造物には、フジツボ、イガイ、藻類等の大型の水棲生物の他にも、水中の微生物やその代謝産物等によって形成されるぬめり感のある薄膜層（スライム層）も形成され、従来は、この薄膜層は汚染物質の1種として除去されてきた。

【0003】

しかし、一方では、上記の薄膜層が形成された水中構造物は、逆に、大型の水棲生物が付着し難いことを利用した技術も報告されている。特開平8-133920号公報には、上記のような薄膜層のうち0.3mm以上のものをバイオゼリーと呼び、このバイオゼリー層を水中の構造物表面に形成させてなる大型水棲生物付着防止方法が開示されている。

【0004】

特開平8-81308号公報及び特開平8-92009号公報には、桂皮酸系、シラン系、ベンジリデンアニリン系化合物を含む塗料を水中構造物に塗装することによって、上記のようなバイオゼリー層を形成させることができることが開示

されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、微生物を含有する塗膜を水中構造体上に形成させた場合に、水中にて、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮する微生物を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生することを特徴とする微生物である。

以下、本発明を詳述する。

【0007】

本発明者らは、桂皮酸系、シラン系、ベンジリデンアニリン系化合物をバイオゼリー形成剤として使用して形成させたバイオゼリーから、*Alteromonas* 属に属する微生物を単離し、この微生物を含む塗料は、水中構造体に塗布して塗膜を形成させた場合に、水中にて、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮することを見だし、本発明を完成した。

【0008】

本発明において、バイオゼリーとは、*Alteromonas* 属に属する微生物が産生するスライム状又はゼリー状の物質であって、それが水中にある構造体に形成されたときに、大型水棲生物が付着することを防止することができるものを意味するものである。

【0009】

上記バイオゼリーを産生するか否かについては、以下の確認試験により行うことができる。即ち、 3×10^{10} cell/ml の微生物を含む溶液 1 重量部、分子量 13000 のポリアクリルアミド 10 重量%水溶液 70 重量部、エチレングリコールジメタクリレート 10 重量部及び過硫酸アンモニウム 0.5 重量部を混合し、TEMED 0.2 重量部を加えたものをアクリル板上に塗布し、窒素雰囲気下室温で 2 時間放置して成膜する。これを海水中に浸漬し、1 か月放置して、ス

ライム状又はゼリー状の物質がアクリル板上に存在しており、かつ、大型水棲生物が付着していないものをバイオゼリー産生微生物とすることができる。

【0010】

上記大型水棲生物とは、水中にある構造物に付着し、個体が目視観察することができる大きさに成長する生物を意味するものであり、例えば、フジツボ、イガイ、カキ、ヒドロ虫、コケムシ、ホヤ、セルプラ等の動物；アオサ、シオミドロ等の植物を挙げることができる。

【0011】

本発明の微生物としては、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生するものであれば特に限定されず、例えば、例えば、SHY 1-1 株等を挙げることができる。上記 SHY 1-1 株は、ベンジリデンアニリン粉末を入れ、フィルターで封をしたシャーレを 15℃の海水に浸漬し、2週間後、フィルターの表面に形成されたバイオゼリーから、本発明者らによって単離されたものであり、バイオゼリーを有利に産生する特性を有するものである。

【0012】

上記 SHY 1-1 株は、図 1 に示す形態を有しており、1本の極鞭毛により運動する海洋性の非発酵性グラム陰性桿菌である。また、塩化ナトリウムを海水濃度程度にまで増量した栄養塩培地にて良好に増殖し、多糖を生産する。生育可能温度は、5～35℃であり、生育最適温度は、30℃付近である。生育可能 pH は、pH 3～9 であり、生育最適 pH は、中性付近である。培養は、振盪培養及び静置培養が可能であるが、振盪培養の方が増殖良好である。静置培養では、バイオゼリーと思われる薄膜が観察される。

また、上記 SHY 1-1 株は、下記表 1 に示す菌学的性質を有する。表中、菌体内 DNA の GC 含量は、HPLC 法によって測定したものである。また、NP は特徴的集落色素を生成しなかったことを表す。

【0013】

【表 1】

試験項目	試験結果
形態	桿菌
グラム染色性	—
孢子	—
運動性	+
鞭毛	極毛
酸素に対する態度	好気性
オキシダーゼ	+
カタラーゼ	+
O/F	—
集落の色調	NP
Na ⁺ 要求性	+
塩類要求性	+
0 %NaCl培地での生育	—
1 %NaCl培地での生育	—
海水培地での生育	+
資化性	
メタノール	—
DL-リンゴ酸	—
グルコース	+
主要キノン系	Q-8
菌体内DNAのGC含量 (mol%)	44

【0014】

上記の性質に基づいて、“Bergey's Manual of Systematic Bacteriology” Krieg, N. R. and Holt, J. G., Vol. 1 (1986) Williams & Wilkins、及び、“Bergey's Manual of Determinative Bacteriology” Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T., 9th Edition (1994) Williams & Wilkins 等の参考文献から、SHY1-1株は、*Alteromonas* 属に属する微生物と同定した。しかし、特徴的集落色素を生成しなかったことから、種の同定を行うことはできなかった。

しかしながら、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物については、これまで報告がないことから、本発明者らはこ

れを新菌株とし、SHY 1-1 株と表示して、通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所（あて名：茨城県つくば市東1丁目1番3号）に、寄託番号 FERM P-17821 株（寄託日：平成12年4月20日）として寄託した。

【0015】

本発明の微生物としては、上記 FERM P-17821 株の他に、FERM P-17821 株の自然的又は人工的変異株、その他の *Alteromonas* 属に属する菌種等であって、バイオゼリーを産生することができるものも挙げることができる。

【0016】

上記微生物は、塗料中に配合し、水中構造体上に塗膜を形成した場合、海水中において、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物が付着することを防止することができる。

上記塗料中に配合する微生物としては、微生物を液体培地等で培養した培養物の形態であってもよいし、培養物から遠心分離等によって得られる微生物そのものであってもよい。

【0017】

上記微生物を塗膜中に固定化する方法としては、微生物が塗膜中で生存できる方法であれば特に限定されず、例えば、共有結合等によって不溶性担体に結合させる担体結合法；架橋法；格子型又はマイクロカプセル型の包括法等を挙げることができる。

上記架橋法としては、多糖類（キチン、キトサン、アルギン酸、寒天、グアーガム等）やタンパク質（ミルクカゼイン、セラチン、ポリリジン、ポリグルタミン酸等）等の生体由来高分子を2種以上組み合わせて塗膜としたもの；グルタルアルデヒド等の二以上の官能基を持つアルデヒド類やカルボン酸類の架橋剤によって1種以上の生体由来高分子を架橋させて塗膜としたもの等を挙げることができる。

【0018】

更に、ラジカル重合を利用したヒドロゲルを利用することもでき、例えば、ジビニルベンゼンジ（メタ）アクリレート、ビスアクリルアミド、エチレングリコー

ルジメタクリレートによって架橋したポリヒドロキシエチルメタクリレート、ポリアクリルアミド等も挙げるができる。

【 0 0 1 9 】

本発明の微生物は、船舶、漁網等の水中構造物に対して好適に使用することができ、海洋等の水中において、水中構造物上にバイオゼリーを産生するので、フジツボ、イガイ、アオサ等の大型水棲生物の付着を防止することができる。

【 0 0 2 0 】

【実施例】

以下に実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

【 0 0 2 1 】

実施例 1

S H Y 1 - 1 株 (F E R M P - 1 7 8 2 1) を、下記の液体培地 1 ~ 5 にそれぞれ無菌的に植菌し、30℃で静置培養を1週間行った。なお、下記培地のうち、海水を使用した液体培地 2 ~ 5 は、新居浜市沿岸より海水を採取し、ろ過により不溶成分を除去し、酵母エキス、グルコース等を添加した培地を調製した後、オートクレーブ滅菌したものを使用した。

液体培地 1 : バクトトリプトン 1 0 g / L、酵母エキス 5 g / L、N a C l 2 4 g / L

液体培地 2 : 海水のみ

液体培地 3 : 海水、酵母エキス 1 g / L

液体培地 4 : 海水、グルコース 5 g / L

液体培地 5 : 海水、酵母エキス 1 g / L、グルコース 5 g / L

培養終了後、菌の増殖とバイオゼリーの形成を目視で確認したところ、いずれの液体培地においても S H Y 1 - 1 株はよく増殖した。特に、海水をベースとした液体培地 2 ~ 5 において、培養液中に不溶性の薄膜が観察された。

その後、培養液を遠心分離し、培養上清に3倍量のエタノールを添加したところ、液体培地 1 ~ 5 のいずれにおいても、白濁が生じ、多糖の生産が見られ、なかでも、グルコースを添加した液体培地 4 及び 5 において、多糖の生産が顕著であ

った。

【0 0 2 2】

実施例 2

S H Y 1 - 1 株を上記液体培地 1 中にて、3 0 ℃で 2 日間振盪培養を行った。この培養液中の生菌数は生菌数計測法で 3×10^{10} c e l l / m l であった。これを培養液 A とする。

培養液 A を 1 m l、分子量 1 3 0 0 0 のポリアクリルアミド 1 0 % 水溶液 7 0 g、エチレングリコールジメタクリレート 1 0 g、過硫酸アンモニウム 0. 5 g を 1 5 ℃で混合し、次に T E M E D 0. 2 g を加えアクリル板上に塗布し、窒素雰囲気下室温で 2 時間放置し、成膜した。

これを、玉野市日本ペイント社臨海研究所沖の筏（瀬戸内海）で浸漬し、1 カ月、3 カ月及び 6 カ月後に大型水棲生物の付着状態を目視観察した。その結果、大型生物の付着は認められなかった。また、1 カ月後に約 2 m m の厚さのバイオゼリーが認められた。

【0 0 2 3】

比較例 1

実施例 2 の培養液 A を加えない他は、実施例 2 と同様に塗膜を作成し、評価した。その結果、生物付着面積は、1 カ月後で 1 0 %、3 カ月後で 1 0 0 % であった。

【0 0 2 4】

【発明の効果】

本発明の微生物は、微生物を含む塗料を水中構造物に塗布して塗膜を形成させた場合、海水中にて、その表面にバイオゼリーを形成し、フジツボ、イガイ、アオサ等の大型水棲生物が水中構造物に付着するのを防止することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

S H Y 1 - 1 株の光学顕微鏡写真である。

【書類名】

図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 微生物を含有する塗膜を水中構造体上に形成させた場合に、水中にて、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮する微生物を提供する。

【解決手段】 *Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生することを特徴とする微生物。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-206228
受付番号	50000855300
書類名	特許願
担当官	第六担当上席 0095
作成日	平成12年 7月11日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成12年 7月 7日

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000230054]

1. 変更年月日 1990年 8月 6日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市北区大淀北2丁目1番2号

氏 名 日本ペイント株式会社